

THESIS

MUNICH

1965

**Untersuchungen über den Einfluß eines
Antihistaminikums und einer heparininak-
tivierenden Substanz auf die hyaluroni-
dasehemmende Wirkung des Adrenalins**

LANE MEDICAL LIBRARY OF
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR
PALO ALTO, CALIFORNIA

Elie Haddad



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40154008_0156

AUS DER MEDIZINISCHEN POLIKLINIK DER
UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Prof. Dr. W. Seitz

**Untersuchungen über den Einfluß eines
Antihistaminikums und einer heparininak-
tivierenden Substanz auf die hyaluroni-
dasehemmende Wirkung des Adrenalins**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und

einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Elie Haddad
aus Libanon

München 1965

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Professor Dr. W. Seitz

Dekan: Professor Dr. O. Hug

Tag der mündlichen Prüfung: 18. Februar 1965

Inhaltsverzeichnis

Problematik	4
Eigene Untersuchungen	7
I. Methodik	7
II. Versuchsreihen	8
III. Versuchsergebnisse	8
IV. Statistische Auswertung	13
Diskussion	21
Zusammenfassung	22
Literaturverzeichnis	23

Problematik

M a t h i e s und Mitarbeiter ¹⁻⁸ konnten zeigen, daß die hyaluronidasehemmende Wirkung antirheumatischer Substanzen (z. B. Salizylate und Pyrazolone) über eine Aktivierung des Nebennierenmarkes zu laufen scheinen. Die Untersuchungen waren mit der gleichen Methodik durchgeführt worden, wie sie auch dieser Arbeit zugrunde lag. Im einzelnen hatten die Versuche gezeigt, daß die spreading-steigernde Wirkung der Hyaluronidase durch die genannten Antirheumatika bei intakten Ratten, jedoch nicht bei adrenaletomierten Tieren signifikant gehemmt wird ^{1, 3, 4, 8}.

Diese Untersuchungen sprachen dafür, daß die Anwesenheit der Nebennieren für das Zustandekommen des hyaluronidasehemmenden Effektes erforderlich ist. Damit war noch nicht geklärt, ob hierbei die Nebennierenrinde oder das Nebennierenmark der entscheidende Anteil ist. Untersuchungen von D o m e n j o z ⁹ zeigten, daß unter Salizylaten und Pyrazolonen eine Nebennierenrinden-Aktivierung, bewiesen durch eine Abnahme des Ascorbinsäuregehaltes der Nebennieren, auftritt. Dieser rindenaktivierende Effekt bleibt bei hypophysektomierten Ratten aus ⁹, jedoch wird die hyaluronidasehemmende Wirkung durch die Hypophysektomie der Tiere nicht beeinflusst ^{4, 8}.

Diese Untersuchungen sprechen dafür, daß die Nebennierenrinde durch die genannten Versuchssubstanzen zwar stimuliert wird, daß diese Stimulation aber keine Bedeutung für das Zustandekommen des hyaluronidasehemmenden Effektes haben kann. Da andererseits aber die Anwesenheit der Nebennieren eine Voraussetzung für den hyaluronidasehemmenden Effekt der Antirheumatika ist, war anzunehmen, daß gleichzeitig eine Nebennierenmark-Aktivierung stattfindet, die in den Wirkungsweg der hyaluronidasehemmenden Stoffe eingeschaltet ist.

Es wurde deshalb der Katecholamingehalt der Nebennieren nach Gabe hyaluronidasehemmender Substanzen untersucht, wobei ein statistisch gesicherter Abfall der Werte festgestellt werden konnte ^{2, 8}.

Weitere Untersuchungen zeigten, daß die Nebennierenmark-Hormone Adrenalin und Noradrenalin nicht nur bei intakten ⁵ sondern auch bei adrenaletomierten Ratten zu einer deutlichen Hyaluronidasehemmung führen ⁷. Dieser Effekt wurde durch Ergotamin als Adrenolytikum aufgehoben ⁵, auch vermochte eine vorherige Ergotamin-Applikation den hyaluronidasehemmenden Effekt der Salizylate und Pyrazolone aufzuheben ⁵.

Es hat sich gezeigt, daß zumindest 1 μ g Adrenalin pro 100 g Ratte bei i.v. Gabe deutlich hyaluronidasehemmend wirksam ist ⁷. Da auffiel, daß die Hyaluronidasehemmung durch Adrenalin erst zu einem Zeitpunkt eintritt, nachdem die Pupillenwirkung bereits abgeklungen ist ⁷, war anzunehmen, daß kein direkter Adrenalineffekt bezüglich der Hyaluronidasehemmung vorliegt.

Es konnte nachgewiesen werden, daß eine Hemmung der Hyaluronidaseaktivität im Spreading-Test immer dann eintritt, wenn der Katecholamin-Blutspiegel auf ein niedrigeres Niveau absinkt ¹⁰. Im Falle einer Katecholamin-Freisetzung aus dem Nebennierenmark durch Salizylat- oder Pyrazolon-Gaben bzw. im Falle experimenteller Katecholamin-Zufuhr bedeutet dieses, daß nach vorheriger Erhöhung des Katecholamin-Blutspiegels bei Wiederabsinken der Werte die Hyaluronidasehemmung auftritt. Es war also nach einem möglichen weiteren Faktor zu suchen, der durch die beschriebene Katecholamin-Dynamik aktiviert wird und möglicherweise direkt die Hyaluronidasehemmung auslöst.

Vom Heparin war bekannt, daß es nicht nur in vivo ^{11, 12} sondern auch in vitro die Hyaluronidase-Aktivität hemmt ^{13, 14}. Möglicherweise bildet Heparin das hier gesuchte Zwischenglied.

Die bisherigen Angaben über die Beeinflussung des Heparins durch Adrenalin sind sehr unterschiedlich ¹⁵⁻²¹. Es konnten deshalb bisher keine eindeutigen Anhaltspunkte für eine mögliche Heparin-Freisetzung aus den Mastzellen durch Aktivierung des Nebennierenmarkes gefunden werden. Heparin bewirkte, wie zu erwarten, auch im in vivo Versuch bei i.v. Gabe eine Hemmung des Hyaluronidase-Spreadings, die durch vorherige Gabe der heparin-inaktivierenden Substanz Protaminsulfat aufgehoben wurde ^{22, 23}. Weiter konnte gezeigt werden, daß

Protaminsulfat auch den hyaluronidasehemmenden Effekt der Salizylate und Pyrazolonkörper aufhebt ^{23, 24}. Da sich Heparin und Histamin aneinander gebunden in den Mastzellen finden ²⁵⁻²⁷, war auch Histamin in die Untersuchungen einbezogen worden. Auch Histamin hemmte das Hyaluronidase-Spreading ^{28, 29}. Dieser Effekt wurde durch das Antihistaminikum Avil blockiert ²⁹. Auch trat der hyaluronidasehemmende Effekt der Salizylate und Pyrazolone nach vorheriger bzw. gleichzeitiger Antihistaminikum-Applikation nicht auf ³⁰. Als blockierend wirksame Dosen haben sich 1,5 mg Protaminsulfat bzw. 5 mg Avil pro 100 g Tier bei i.v. Gabe erwiesen. Diese Ergebnisse sprechen dafür, daß möglicherweise sowohl Heparin als auch Histamin in den Wirkungsablauf hyaluronidasehemmender Substanzen eingeschaltet sind.

Es blieb zu untersuchen, ob Protaminsulfat und Avil ebenfalls in der Lage sind, die hyaluronidasehemmende Wirkung des Adrenalins zu verhindern. Entsprechende Untersuchungen wurden in der hier vorgelegten Arbeit durchgeführt. Den Versuchen wurde die bereits mehrfach bei Anwendung der gleichen Methodik als sicher hyaluronidasehemmend wirksame Adrenalindosis von 1 γ pro 100 g Ratte zugrunde gelegt ^{5, 10}. Nach diesen genannten Untersuchungen ist 10 - 15 min nach i.v. Adrenalin-Applikation mit einer maximalen Hyaluronidasehemmung zu rechnen. Diese Versuchszeiten wurden deshalb den folgenden Untersuchungen zugrunde gelegt und auf die Werte 30 und 45 min nach Applikation erweitert.

Eigene Untersuchungen

I. Methodik

Als Versuchstiere wurden männliche weiße Ratten im Gewicht von 160 bis 205 g verwandt. Die Versuche wurden in Evipan-Narkose durchgeführt, wobei pro 100 g Tier 0,3 ccm einer 10%igen Evipan-Lösung subkutan injiziert wurden.

Auf die mit "Pilca" enthaarte Bauchhaut der Versuchstiere wurden jeweils 6 Quaddeln mit 0,1 ccm Lösung intrakutan gesetzt. Dabei enthielten die Farbstoff-Quaddeln (F) 0,1 ccm einer 0,06%igen Evans-blue-Lösung, die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddeln (FH) enthielten in der gleichen Menge der gleichen Farbstofflösung 7,5 I. E. einer hochgereinigten Testes-Hyaluronidase.

Für jeden der beiden Quaddel-Typen wurden am gleichen Tier je eine Kontroll-Quaddel (Fv bzw. FHv) vor Belastung der Tiere mit der Prüfsubstanz und je zwei Versuchsquaddeln zu festgesetzten Zeiten (Ft bzw. FHT) nach Belastung der Tiere mit der Prüfsubstanz gesetzt.

Die Prüfsubstanzen wurden intravenös appliziert, wobei die vorgegebene Menge/100 g Tier jeweils in 0,25 ccm physiologischer Kochsalzlösung enthalten war. Die Gewichtsangaben im Text beziehen sich stets auf mg der Präparate, die pro 100 g Tier injiziert wurden.

Zur Bestimmung des Spreadings bzw. zur Feststellung der Ausbreitungsgeschwindigkeit des Farbstoffes wurde die Größe der Quaddeln jeweils 10 Minuten nach dem Setzen festgehalten und später planimetrisch bestimmt und in mm^2 angegeben.

Die 6 Quaddeln werden als die 6 "Verfahren" des Versuchs bezeichnet, die Kontrollquaddeln bezeichnen wir als "Kontrolle" (Fv bzw. FHv), die Quaddeln nach Belastung mit der Prüfsubstanz als "Versuchszeiten" (Ft bzw. FHT).

Die Bauchhaut der Tiere wurde für die Zwecke der Versuchsplanung in ein Versuchsfeld mit 6 verschiedenen Lokalisationsmöglichkeiten aufgeteilt:



Um etwaige Einflüsse der jeweiligen Lokalisation auf die Ergebnisse der Versuche auszuschalten, wurden die Versuche als "lateinische Quadrate" geplant. Für jede Versuchsreihe wurden entsprechend den 6 möglichen Lokalisationen 6 Versuchstiere herangezogen. Jedes der 6 Verfahren wurde dabei an jeder der 6 Lokalisationen in zufälliger Anordnung einmal appliziert.

II. Versuchsreihen

Versuchsreihe 1: Bestimmung der Hyaluronidase-Hemmung durch 1 γ Adrenalin/100 g Tier i.v. bei simultaner Applikation von 5 mg Avil/100 g Tier i.v.
a) Versuchszeiten 10' und 30'
b) Versuchszeiten 15' und 45'.

Versuchsreihe 2: Bestimmung der Hyaluronidase-Hemmung durch 1 γ Adrenalin/100 g Tier i.v. bei vorheriger Applikation von 1,5 mg Protaminsulfat. Protaminsulfat wurde 10 min vor Adrenalin appliziert.
a) Versuchszeiten 15' und 50'
b) Versuchszeiten 10' und 30'.

III. Versuchsergebnisse

Die Versuchsergebnisse und Einzelwerte sind für Versuchsreihe 1 in Tabelle 1 und 2 und für Versuchsreihe 2 in Tabelle 3 und 4 angegeben. In den Tabellen sind gleichzeitig die in den einzelnen Versuchsreihen zugrunde gelegten lateinischen Quadrate enthalten. Die Errechnung der Mittelwerte und Differenzen der Mittelwerte zu den einzelnen Versuchszeiten gegenüber den Mittelwerten der Leerquaddeln wurden im Rahmen der statistischen Auswertung berechnet und sind dort angegeben.

Tier Nr.	F _v mm ²	F ₁₅ mm ²	F ₄₅ mm ²	FH _v mm ²	FH ₁₅ mm ²	FH ₄₅ mm ²
I	121	120	130	196	180	205
II	128	122	126	203	186	201
III	125	110	130	199	168	205
IV	135	115	117	220	192	200
V	126	103	120	212	190	200
VI	119	110	120	213	205	200

Tier Nr.	L o k a l i s a t i o n					
	1	2	3	4	5	6
I	F _v	FH ₁₅	FH ₄₅	F ₄₅	FH _v	F ₁₅
II	F ₁₅	F _v	FH ₁₅	FH ₄₅	F ₄₅	FH _v
III	FH _v	F ₁₅	F _v	FH ₁₅	FH ₄₅	F ₄₅
IV	F ₄₅	FH _v	F ₁₅	F _v	FH ₁₅	FH ₄₅
V	FH ₄₅	F ₄₅	FH _v	F ₁₅	F _v	FH ₁₅
VI	FH ₁₅	FH ₄₅	F ₄₅	FH _v	F ₁₅	F _v

T a b e l l e 1
(Versuchsreihe 1a)

Tier Nr.	F_v mm ²	$F_{10'}$ mm ²	$F_{30'}$ mm ²	FH_v mm ²	$FH_{10'}$ mm ²	$FH_{30'}$ mm ²
I	120	110	118	200	185	195
II	130	120	124	230	210	213
III	110	104	115	194	180	190
IV	117	112	120	205	198	205
V	128	109	114	205	190	206
VI	128	114	112	209	200	200

Tier Nr.	L 1	o 2	k 3	a 4	l 5	i 6	s 7	a 8	t 9	i 10	o 11	n 12
I	FH_{10}	F_{10}	F_{30}	FH_{30}	F_v	FH_v						
II	FH_v	FH_{10}	F_{10}	F_{30}	FH_{30}	F_v						
III	F_v	FH_v	FH_{10}	F_{10}	F_{30}	FH_{30}						
IV	FH_{30}	F_v	FH_v	FH_{10}	F_{10}	F_{30}						
V	F_{30}	FH_{30}	F_v	FH_v	FH_{10}	F_{10}						
VI	F_{10}	F_{30}	FH_{30}	F_v	FH_v	FH_{10}						

T a b e l l e 2
(Versuchsreihe 1b)

Tier Nr.	F _v mm ²	F _{15'} mm ²	F _{50'} mm ²	FH _v mm ²	FH _{15'} mm ²	FH _{50'} mm ²
I	120	133	120	199	217	210
II	126	127	120	213	221	220
III	130	128	116	226	230	210
IV	120	122	120	200	206	210
V	115	122	120	200	216	210
VI	120	124	122	196	200	200

Tier Nr.	L 1	o 2	k 3	a 4	l 5	i 6	s n
I	FH ₁₅	FH _v	F ₅₀	FH ₅₀	F _v	F ₁₅	
II	F ₁₅	FH ₁₅	FH _v	F ₅₀	FH ₅₀	F _v	
III	F _v	F ₁₅	FH ₁₅	FH _v	F ₅₀	FH ₅₀	
IV	FH ₅₀	F _v	F ₁₅	FH ₁₅	FH _v	F ₅₀	
V	F ₅₀	FH ₅₀	F _v	F ₁₅	FH ₁₅	FH _v	
VI	FH _v	F ₅₀	FH ₅₀	F _v	F ₁₅	FH ₁₅	

Tabelle 3
(Versuchsreihe 2a)

Tier Nr.	F _v mm ²	F _{10'} mm ²	F _{30'} mm ²	FH _v mm ²	FH _{10'} mm ²	FH _{30'} mm ²
I	116	122	120	198	210	210
II	120	133	125	192	210	222
III	130	120	126	223	227	200
IV	110	118	124	200	202	210
V	137	130	120	200	238	221
VI	112	119	119	200	220	226

Tier Nr.	L 1	o 2	k 3	a 4	l 5	i 6	s n
I	FH _v	F ₃₀	FH ₁₀	F _v	FH ₃₀	F ₁₀	
II	F ₁₀	FH _v	F ₃₀	FH ₁₀	F _v	FH ₃₀	
III	FH ₃₀	F ₁₀	FH _v	F ₃₀	FH ₁₀	F _v	
IV	F _v	FH ₃₀	F ₁₀	FH _v	F ₃₀	FH ₁₀	
V	FH ₁₀	F _v	FH ₃₀	F ₁₀	FH _v	F ₃₀	
VI	F ₃₀	FH ₁₀	F _v	FH ₃₀	F ₁₀	FH _v	

T a b e l l e 4
(Versuchsreihe 2b)

IV. Statistische Auswertung der Versuchsergebnisse

1. Statistisches Modell und Methodik

Primäre Aufgabe der statistischen Auswertung von Versuchsergebnissen ist die Bestimmung der experimentellen Variabilität. Hierzu ist es notwendig, die Gesamt-Variabilität der Versuchsergebnisse so in Komponenten zu zerlegen, daß jedem systematischen Faktor, welcher das Versuchsergebnis möglicherweise beeinflußt, eine Varianz-Komponente entspricht. Derjenige Anteil der Gesamt-Variabilität, der sich nicht als Folge solcher systematischer Faktoren erklären läßt, wird dann als Schätzung der experimentellen Variabilität herangezogen.

Bei der hier vorliegenden Versuchsanordnung waren folgende systematische Faktoren zu berücksichtigen:

Individuelles Reaktionsniveau der Versuchstiere;
Wirkung der 6 "Verfahren";
Einfluß der Lokalisation.

Zur Bestimmung der Variabilitäten, die zu diesen systematischen Faktoren gehören, bedienen wir uns mehrfacher Varianz-Analysen. Diesen Varianz-Analysen liegt ein lineares statistisches Modell zugrunde, bei dem angenommen wird, daß sich die Wirkung der einzelnen Faktoren in additiver Form unabhängig überlagert. Der Einfluß, den die einzelnen systematischen Faktoren auf die Gesamt-Variabilität haben, ergibt sich in den Varianz-Analysen in Form von "Varianz-Komponenten", die den einzelnen systematischen Faktoren entsprechen. Die Schätzungen der experimentellen Variabilitäten liefern die Varianz-Analysen in Form der "Rest-Varianz".

Ein systematischer Faktor hat nur dann einen statistisch gesicherten Einfluß auf die Versuchsergebnisse, wenn die zugehörige Varianz-Komponente statistisch gesichert größer ist als die experimentelle Variabilität (Rest-Varianz). Ob dies der Fall ist, wird in den Varianz-Analysen durch einen Vergleich dieser beiden Varianz-Komponenten mit Hilfe des F-Tests geprüft.

Entsprechend der Fragestellung, die den Versuchen zugrunde lag, interessierte uns hier primär nur der Einfluß, den die 6 Verfahren auf die Diffusionsgeschwindigkeit der Quaddeln ausüben. Hierbei

war zunächst zwischen den beiden Quaddel-Typen zu unterscheiden; außerdem war für jeden Quaddel-Typus einzeln zu prüfen, ob statistisch gesicherte Unterschiede zwischen den Kontrollen und den Versuchszeiten einerseits und zwischen den Versuchszeiten selbst andererseits bestehen. Diesen Fragestellungen entspricht in den Varianz-Analysen je 1 "orthogonale Komponente" der Varianz-Komponente, die zu dem systematischen Faktor "Verfahren" gehört. Ein statistisch gesicherter Einfluß der Prüfsubstanz auf die Diffusionsgeschwindigkeit eines Quaddel-Typus liegt nur dann vor, wenn mindestens eine der beiden orthogonalen Komponenten, die zu diesem Quaddel-Typus gehören, statistisch gesichert größer ist als die Rest-Varianz. Die Prüfung dieser Frage wurde ebenfalls mit Hilfe des F-Tests durchgeführt.

Das lineare statistische Modell und somit die Varianz-Analyse läßt keinen Schluß auf die absolute Wirksamkeit eines "Verfahrens" zu; es ist vielmehr nur möglich, den Unterschied in der Wirksamkeit je zweier "Verfahren" statistisch zu prüfen. Die Größe dieses Unterschiedes wird dabei auf folgende Weise geschätzt: Es sei hierzu $\bar{x}(V)$ das arithmetische Mittel aller Meßwerte, die für das Verfahren V beobachtet wurden. Die Differenz zwischen den Mittelwerten, die zu zwei verschiedenen Verfahren gehören, ist dann eine optimale Schätzung für den Unterschied in der "Wirkung" der Verfahren; gemessen wird hierbei die Differenz in der Diffusionsgeschwindigkeit, die zu diesen beiden Verfahren gehören. Bei der Fragestellung, die den Versuchen zugrunde lag, interessierte hier primär der Unterschied

$$d \bar{x}(t) = \bar{x}(t) - \bar{x}(K)$$

zwischen den Versuchszeiten t und der Kontrolle K. Im Prinzip wird in der Varianz-Analyse nichts anderes geprüft als die Frage, ob diese Mittelwertsdifferenzen $d \bar{x}(t)$ statistisch gesichert von 0 verschieden sind.

2. Darstellung der Ergebnisse der statistischen Auswertung

Die Ergebnisse der statistischen Auswertung sind in den Tabellen 5-8 dargestellt. Im oberen Teil dieser Tabellen ist für jede Versuchsreihe das Ergebnis der zugehörigen Varianz-Analyse angege-

ben; im unteren Teil finden sich für jedes Verfahren die Mittelwerte $\bar{x}(V)$ und außerdem die Mittelwertsdifferenzen $d \bar{x}(t) = \bar{x}(t) - \bar{x}(K)$. Soweit sich aus den Varianz-Analysen ergab, daß eine Mittelwertsdifferenz $d \bar{x}(t)$ statistisch gesichert von 0 verschieden ist, wurde in der Spalte "Sicherung" angegeben, mit welcher Irrtumswahrscheinlichkeit diese Aussage belastet ist. In der mit "Hemmung" überschriebenen Spalte ist schließlich die in üblicher Weise errechnete prozentuale Hyaluronidasehemmung angegeben.

In den Schemata der Varianz-Analysen bedeutet:

- n: die Zahl der Freiheitsgrade der Varianz-Komponente;
- SAQ: das Summen-Abstands-Quadrat der Varianz-Komponente;
- MAQ: das Mittlere-Abstands-Quadrat der Varianz-Komponente;
- $F_{\text{emp.}}$: den Varianz-Quotienten zwischen der jeweiligen Varianz-Komponente und der experimentellen Variabilität (Rest-Varianz);
- p: die Überschreitungswahrscheinlichkeit des Varianz-Quotienten $F_{\text{emp.}}$ in der zugehörigen F-Prüfverteilung.

Ein statistisch gesicherter Einfluß eines systematischen Faktors bzw. ein statistisch gesicherter Unterschied zwischen den verschiedenen Verfahren liegt nur dann vor, wenn der zugehörige Varianz-Quotient $F_{\text{emp.}}$ eine Überschreitungswahrscheinlichkeit besitzt, die nicht größer ist als 5%. Von einer ausreichenden statistischen Sicherung kann allerdings erst gesprochen werden, wenn die Überschreitungswahrscheinlichkeit des Varianz-Quotienten sogar kleiner als 1% ist. Eine Irrtumswahrscheinlichkeit für die Aussage, eine Mittelwertsdifferenz $d \bar{x}(t)$ sei statistisch gesichert von 0 verschieden wurde daher nur angegeben, wenn diese nicht größer war als 5%.

3. Diskussion der Ergebnisse der statistischen Auswertung

Versuchsreihe 1:

Zu den Zeitpunkten 10' und 15' nach Applikation von Adrenalin liegen statistisch gesicherte Hemmungen der Ausbreitungsgeschwindigkeiten beider Quaddel-Typen vor; die Größenordnung dieser Hemmungen ist für beide Quaddel-Typen annähernd gleich (s. die Mittelwertsdifferenzen $d \bar{x}(t)$ in den Tabellen 5 und 6). Zu den Zeit-

punkten 30' und 45' dieser Versuchsreihe liegen weder für die reine Farbstoff-Quaddel noch für die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel statistisch gesicherte Veränderungen des Spreadings gegenüber der Kontrolle vor; die beobachteten Mittelwertsdifferenzen zu diesen Zeitpunkten sind sehr klein. Da gleichzeitig in diesen Versuchsreihen die experimentelle Variabilität (Rest-Varianz) klein ist, ist das Fehlen einer statistisch gesicherten Hemmung zu den Zeitpunkten 30' und 45' keine Folge einer zu großen experimentellen Variabilität, vielmehr liegt hier ein realer Sachverhalt zugrunde.

Versuchsreihe 2:

In dieser Versuchsreihe konnten zu keiner Versuchszeit statistisch gesicherte Veränderungen im Spreading der reinen Farbstoff-Quaddel festgestellt werden. Dagegen liegen zu den Zeitpunkten 10' und 30' (Versuchsreihe 2b) statistisch gesicherte Veränderungen in der Ausbreitungsgeschwindigkeit der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel vor. Wie sich aus dem Vorzeichen der Mittelwertsdifferenz $d\bar{x}(t)$ ergibt, handelt es sich zu diesen Zeitpunkten um eine Vergrößerung der Ausbreitungsgeschwindigkeit der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel gegenüber der zugehörigen Kontrolle. Eine entsprechende Vergrößerung, die allerdings statistisch nicht zu sichern ist, läßt sich zu den Zeitpunkten 10' und 15' der Versuchsreihe 2a feststellen. Für die Interpretation dieser Versuche ist es bemerkenswert, daß in der Versuchsreihe 2b, in der statistisch gesicherte Effekte auftreten, die experimentelle Variabilität größer ist als in der Versuchsreihe 2a. Außerdem sind selbstverständlich in der Versuchsreihe 2b die Mittelwertsdifferenzen größer als in der Versuchsreihe 1a. Berücksichtigt man auch noch die Anordnung der Versuchszeiten in den beiden Teilversuchsreihen a und b, so ist es durchaus denkbar, daß in dem Verhalten der Mittelwertsdifferenzen dieser beiden Versuchsreihen der Einfluß eines Regulationsmechanismus zum Ausdruck kommt.

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	P
Zwischen Tieren	5	1.636	327	10,90	0,1%
Zwischen Lokalisationen	5	16	3	-	
Zwischen Stufen	5	64.215	12.843	100,00	0,1%
Zw. Quaddel-Typen	1	63.336	63.336	100,00	0,1%
Zw. Kontr. u. Vers.-Z. (F)	1	245	245	8,17	1,0%
Zw. Versuchs-Zeiten (F)	1	96	96	3,20	-
Zw. Kontr. u. Vers.-Z. (FH)	1	361	361	12,03	1,0%
Zw. Versuchs-Zeiten (FH)	1	176	176	5,86	5,0%
Rest-Varianz	20	599	30		
Gesamt-Varianz	35	66.466	1.899		

	n	$\bar{x}(t)$	$s^2(t)$	d $\bar{x}(t)$	Hemmung	Sicherung
F _v	6	122	61,8			
FH _v	6	207	151,8			
F _{10'}	6	112	28,8	- 10		1%
FH _{10'}	6	194	120,2	- 13	14,8%	1%
F _{30'}	6	117	19,4	- 5		-
FH _{30'}	6	201	68,4	- 6	6,3%	-

T a b e l l e 5
(Versuchsreihe 1a)

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	5	100	20	-	
Zwischen Lokalisationen	5	18	4	-	
Zwischen Stufen	5	57.173	11.435	100,00	0,1%
Zw. Quaddel-Typen	1	55.696	55.696	100,00	0,1%
Zw. Kontr. u. Vers.-Z. (F)	1	201	201	3,14	-
Zw. Versuchs-Zeiten (F)	1	331	331	5,17	5,0%
Zw. Kontr. u. Vers.-Z. (FH)	1	514	514	9,03	5,0%
Zw. Versuchs-Zeiten (FH)	1	432	432	6,75	5,0%
Rest-Varianz	20	1.272	64		
Gesamt-Varianz	35	58.563	1.673		

	n	$\bar{x}(t)$	$s^2(t)$	d $\bar{x}(t)$	Hemmung	Sicherung
F _v	6	126	31,8			
FH _v	6	207	86,2			
F _{15'}	6	113	50,2	- 13		1%
FH _{15'}	6	190	72,2	- 17	20,1%	1%
F _{45'}	6	124	31,4	- 2		-
FH _{45'}	6	202	6,2	- 5	6,2%	-

T a b e l l e 6
(Versuchsreihe 1b)

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	5	754	151	3,28	5,0%
Zwischen Lokalisationen	5	22	5	-	
Zwischen Stufen	5	69.643	13.929	100,00	0,1%
Zw. Quaddel-Typen	1	69.257	69.257	100,00	0,1%
Zw. Kontr. u. Vers.-Z. (F)	1	4	4	-	
Zw. Versuchs-Zeiten (F)	1	120	120	2,61	-
Zw. Kontr. u. Vers.-Z. (FH)	1	187	187	4,06	-
Zw. Versuchs-Zeiten (FH)	1	75	75	1,63	-
Rest-Varianz	20	915	46		
Gesamt-Varianz	35	71.334	2.038		

	n	$\bar{x}(t)$	$s^2(t)$	d $\bar{x}(t)$	Hemmung	Sicherung
F _v	6	122	28,2			
FH _v	6	206	133,8			
F _{15'}	6	126	18,0	+ 4		-
FH _{15'}	6	215	114,4	+ 9	- 11,2	-
F _{50'}	6	120	3,8	- 2		-
FH _{50'}	6	210	40,0	+ 4	- 5,2	-

T a b e l l e 7
(Versuchsreihe 2a)

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	2	778	156	1,63	-
Zwischen Lokalisationen	5	25	5	-	
Zwischen Stufen	5	72.678	14.536	100,00	0,1%
Zw. Quaddel-Typen	1	71.824	71.824	100,00	0,1%
Zw. Kontr. u. Vers.-Z. (F)	1	19	19	-	
Zw. Versuchs-Zeiten (F)	1	5	5	-	
Zw. Kontr. u. Vers.-Z. (FH)	1	803	803	8,37	1,0%
Zw. Versuchs-Zeiten (FH)	1	27	27	-	
Rest-Varianz	20	1.923	96		
Gesamt-Varianz	35	75.404	2.154		

	n	$\bar{x}(t)$	$s^2(t)$	d $\bar{x}(t)$	Hemmung	Sicherung
F _v	6	121	113,0			
FH _v	6	202	113,8			
F _{10'}	6	124	39,4	+ 3		-
FH _{10'}	6	218	173,8	+ 16	- 19,6%	1%
F _{30'}	6	122	9,0	+ 1		-
FH _{30'}	6	215	96,2	+ 13	- 15,9%	1%

T a b e l l e 8
(Versuchsreihe 2b)

Diskussion

Der Einfluß des Adrenalins auf das Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading bei intakten Ratten wurde von Kiraly³¹, Reindl³² und Schmidt³³ untersucht. Die genannten Autoren fanden bei Anwendung der gleichen Methodik unter intravenöser Gabe von 1 \ pro 100 g 15 Minuten nach Applikation von Adrenalin in jedem Falle eine statistisch hoch gesicherte Hemmung des spreading-steigernden Effektes der Hyaluronidase. Die Mittelwertsdifferenzen gegenüber dem Ausgangswert lagen zwischen 41 und 54 mm². Die Untersuchungsergebnisse der hier vorgelegten Arbeit zeigen, daß bei gleichzeitiger Avil-Applikation zur Adrenalin-Gabe mit Mittelwertsdifferenz von -17 mm² zur gleichen Versuchszeit post applicationem noch eine geringe statistisch zu sichernde Hyaluronidasehemmung sichtbar ist. Auch 10 min nach Applikation der Versuchssubstanzen war die Hyaluronidasehemmung statistisch zu sichern, während 30 und 45 min nach Applikation eine Hemmung der Hyaluronidase-Aktivität nicht mehr sichtbar war. Bei dieser Versuchsanordnung war also die hyaluronidasehemmende Wirkung des Adrenalins wesentlich abgeschwächt, wenn auch eine statistische Sicherung der Werte noch möglich war.

Deutlicher war die Aufhebung des hyaluronidasehemmenden Effektes des Adrenalins nach vorheriger Gabe von Protaminsulfat. Hier war zu allen Versuchszeiten eher eine leichte Steigerung des Farbstoff-Hyaluronidase-Spreadings festzustellen. Die Tatsache, daß auch hier trotz geringer Mittelwertsdifferenzen statistische Sicherungen möglich waren, spricht für eine Konstanz der Versuchsergebnisse der einzelnen Versuchstiere und zeigt, daß auch die geringe Hyaluronidasehemmung bei Adrenalin+Avil-Gabe trotz statistischer Sicherung als unerheblich im Vergleich zum hyaluronidasehemmenden Effekt des Adrenalins zu bezeichnen ist. Es ist damit wahrscheinlich, daß sowohl ein Antihistaminikum als auch das heparininaktivierende Protaminsulfat den hyaluronidasehemmenden Effekt des Adrenalins zu blockieren in der Lage ist. Wenn diskutiert wurde, daß eine Katecholaminfreisetzung aus dem Nebennierenmark indirekt über Heparin und Histamin eine Hyaluronidasehemmung herbeiführt, so gewinnt diese Annahme durch die erzielten Versuchsergebnisse an Wahrscheinlichkeit.

Zusammenfassung

Eine hyaluronidasehemmende Wirkung des Adrenalins nach i.v. Gabe bei intakten Ratten war bereits bekannt. Es wurde der Einfluß eines Antihistaminikums und des Protaminsulfates auf diesen genannten Effekt untersucht. Beide Substanzen waren in der Lage, den hyaluronidasehemmenden Effekt des Adrenalins aufzuheben bzw. zumindest weitgehend zu reduzieren. Die Bedeutung dieser Befunde für die Wirkungsweise hyaluronidasehemmender Substanzen wurde diskutiert.

Literaturverzeichnis

- 1) Mathies, H. u. Jankowski, A.: Klin. Wschr. 35, 892 (1957)
- 2) Mathies, H.: Med. Mschr. 11, 791 (1957)
- 3) Mathies, H.: Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 64. Kongr. 1958
- 4) Mathies, H.: Arzneimittelforsch. 8, 233 (1958)
- 5) Mathies, H., Glück, A., Poulantzas, J. u. Schmidt, D.:
Med. Exp. 1, 64 (1959)
- 6) Mathies, H.: Zschr. Rheumaforsch. 18, 205 (1959)
- 7) Mathies, H.: Arch. int. pharmacodyn. CXXIII, 333 (1960)
- 8) Mathies, H., Biechele, I. u. Hartmann, M.: Ärztl. Forsch.
XIV, I/160 (1960)
- 9) Domenjoz, R.: Arch. exp. Path. Pharmacol. 225, 14 (1955)
- 10) Mathies, H. u. Schlierf, G.: Med. Exp. 2, 334 (1960)
- 11) Maxein, H.: Diss. München 1959
- 12) Ziware, P.: Diss. München 1961
- 13) van Caneghem, R., Marx, R. u. Spier, H. W.: Arch. exp. Path.
Pharmacol. 227, 149 (1955)
- 14) Pantlitschko, M. u. Kaiser, E.: Biochem. Zschr. 322, 137 (1951)
- 15) Donzelot, E. u. Kaufmann, H.: La presse méd. 76, 60, 1619 (1952)
- 16) Perlick, E.: Antikoagulantien. VEB Georg Thieme Verlag Leipzig 1957
- 17) Weissbecker, L. u. Schröter, A.: Acta endocrinol. 15, 66 (1954)
- 18) Schwarz, E., Usteri, C. u. Koller, F.: Acta haematol. 4, 148 (1950)
- 19) Scalabrino, R.: zit. Winterstein, A.: Medizinische 590 (1956)
- 20) Hauschild, F.: Pharmakologie und Grundlagen der Toxikologie.
VEB Georg Thieme Verlag, Leipzig 1956
- 21) Mathies, H.: Arbeit im Manuskript
- 22) Glück, A.: Diss. München 1959
- 23) Christoforis, A.: Diss. München (1960)
- 24) Weiss, G.: Diss. München 1960
- 25) Riley, I. F. u. West, G. B.: Fed. Proc. 11, 350 (1952)
- 26) Werle, E. u. Amann, R.: Naturwissenschaften 42, 583 (1955) und
Klin. Wschr. 624 (1956)
- 27) Sanyal, R. K. u. West, G. B.: Nature (London) 1293 (1956)
- 28) Meder, H.: Diss. München 1961
- 29) Kontis, N.: Diss. München 1960
- 30) Ahlheim, G.: Diss. München 1960
- 31) Kiraly, E.: Diss. München 1961
- 32) Reindl, W.: Diss. München 1960
- 33) Schmidt, D.: Diss. München 1961

Ich danke Herrn Professor Dr. W. Seitz für die Überlassung des
Themas und Herrn Dr. H. Mathies für die Anregung zu dieser Arbeit
und die Unterstützung bei der Bearbeitung des Themas. Herrn
Dipl.-Math. K. Liebrich danke ich für die Durchführung der
statistischen Berechnungen.

Am 24.7.1936 wurde ich in Kabbelias-Beirut/Libanon geboren. Juni 1953 absolvierte ich an d. Universal-College of Aley-Libanon mein Abitur. Oktober 1953 besuchte ich das Haigazian-College of Beirut, nach dreijährigem Philosophie-Studium kam ich im März 1956 nach München und begann im Mai 1956 mit dem medizinischen Studium an der Münchener Universität. Im Anschluß an das Sommersemester 1962 beendete ich hier mein Studium mit der Ärztlichen Staatsprüfung.

Nach dem Staatsexamen arbeitete ich in der Privatklinik Dr. Haddad in Beirut /Libanon, ab Oktober 1962 in der Chirurgischen Privatklinik Dr. Rinecker, München, ab August 1963 in der Privatklinik Dr. Müller, München, und ab Januar 1964 in der Privatklinik Dr. Geisenhofer in München.

